

## Glucocorticoid Removable Aldosteronism의 분자 생물학적 기전

성균관대학교 의과대학 임상병리과학교실

김 종 원

### Molecular Genetics of Glucocorticoid Removable Aldosteronism

Jong-Won Kim, M.D.

Department of Clinical Pathology College of Medicine, Sung Kyun Kwan University, Seoul, Korea

### 서 론

최근에 유전자 분석방법이 급격하게 발전함에 따라 과거에는 분석하기 어렵다고 생각되었던 다인자 질환(multifactorial disease) 혹은 복합질환(complex disease)에 대한 유전적 분석이 이루어지고 있다. 고혈압은 유전적 원인뿐만 아니라, 다양한 환경적 원인들이 복합적으로 작용하는 다인자 질환의 대표적인 예이다. 현재 혈압에 관련된 유전자들에 대한 연구는 매우 활발하게 진행되고 있으나, 유전적 원인이 정확히 밝혀진 고혈압 질환은 아직까지 매우 소수에 불과하다. 현재 고혈압에 대한 유전적 이해는 극히 초기단계라고 할 수 있다. 사람에게서 단일 유전자의 이상으로 인하여 고혈압을 일으키는 질환들을 이제 알아내기 시작하는 단계이기 때문이다. 고혈압 질환중에서 단일유전자로 유전하는 질환은 현재 glucocorticoid removable aldosteronism(GRA)와 Liddle syndrome이 알려져 있고, 이들은 모두 상염색체 우성으로 유전한다. 이 질환이 갖는 독특한 분자생물학적 원인과 발생기전은 고혈압뿐만 아니라, 다른 유전 질환의 이해에도 커다란 기여를 하므로 이 질환에 대한 분자생물학적 기전의 고찰은 가치가 있다고 할 수 있다.

### GRA 원인 유전자 발견의 역사

Glucocorticoid removable aldosteronism(GRA) 혹은 glucocorticoid suppressible hyperaldosteronism(GSH)은 aldosterone의 과다분비에 의해서 발생되는 유전적 원인의 고혈압 질환중의 하나이다. 이 질환은 aldosterone synthase 유전자와 steroid 11 $\beta$  hydroxylase 유전자의 융합으로 생기는 유전자 이상이다.

이 질환은 각종 내분비 검사가 발전함에 따라 비교적 최근에 발견되었다. Sutherland 등(1966)과 Salti 등(1969)은 각각 독립적으로 아버지와 아들이 고혈압과 혈장 레닌 활성도가 낮고, dexamethasone에 반응하여 aldosterone의 분비가 증가하는 증례를 보고하였는데, 아버지의 복강경 관찰에서 다발성 부신피질 선종을 갖는 것을 발견하였다. 이것은 dexamethasone에 반응하지 않는 primary aldosteronism과 매우 다른 소견이었다. 이후 New and Peterson(1967), Giebink 등(1973)이 증례보고를 함에 따라 이 질환의 실체가 인정되기 시작했다. Ganguly 등(1981)은 2환자 가족의 분석에서 젊은 나이에 발생하는 가족력을 가진 primary aldosteronism의 양상을 보이는 고혈압 환자들에 대하여 dexamethasone으로 치료가 된다고 보고하였다. 동시에

Fig. 1. Aldosterone synthase와 11-OHase 유전자의 unequal crossing over. 융합유전자의 5 prime 부분은 11-OHase의 5 prime 부분이고, 3 prime 부분은 aldosterone synthase의 3 prime 부분이다. Crossing over는 11-OHase 유전자 exon 2-4 사이에 흔히 일어난다.

primary aldosteronism을 세 야형으로 나누어, aldosterone producing adenoma, 양측성 부신과형성으로 인한 idiopathic form, glucocorticoid suppressible hyperaldosteronism(GSH)으로 분류하였다. Murlow (1981)는 GSH의 결함이 전위 시상하부선에 결함이 있을 것으로 생각하고, 이 부위에서 aldosterone 분비에 매우 강력한 내분비물질을 생성할 것이라고 추측하였다. 이것은 후에 연구결과에서는 시상하부라는 점에서 틀렸지만, 정상적으로는 존재하지 않는 내분비 물질이만 들어지는 것은 사실이었다.

이후 이 질환의 결함이 밝혀지기까지는 aldosterone 관련 유전자의 분리 및 염기서열 확인 등의 분자생물학적 발전이 필요했다. Aldosterone synthase는 steroid 11 $\beta$  hydroxylase와 같이 adrenal glomerulosa와 fasciculata에서 발현된다. 이 두 유전자는 아미노산 서열상 93% 동일하였고, 상 염색체 8q22에 존재하는 것이 밝혀졌다. 그리고, chimeric 유전자가 GRA의 원인이라는 것이 연관분석을 통하여 밝혀졌다.

#### GRA의 유전적 특징

GRA 융합유전자는 steroid 11 $\beta$  hydroxylase과 aldosterone synthase 유전자 사이에 unequal crossing-over로 인해 발생하며, steroid 11 hydroxylase 유전자의 promotor와 5' prime 부분을 가지고 있고, 그 아래부분은 aldosterone synthase 유전자의 3' 부분을 갖고 있다 (Fig. 1). 그러므로 유전자의 분류상, aldosterone synthase 유전자의 이상으로 분류가 된다. 이 유전자의 융합은 hemoglobin Lepore 유전자의 융합과는 반대의 위치로 융합이 된다. Lopore는 hemoglobin delta가 hemoglobin beta의 상단에 있으면서, 유전자의 융합은 delta-beta로 일어난다. 이에 반해 hemoglobin anti-Lopore에 해당하는 Hb Miyada와 Hb P(Nilotic)은 beta-delta 융합이 일어난다. 그러므로 GRA는 anti-Lopore형 유전자 융합이라고 할 수 있다.

Pascoe 등(1992)은 인공적으로 steroid 11 $\beta$  hydroxylase 유전자의 5' prime 부위와 aldosterone synthase 유

band가 존재하는 것을 찾아 내는 방법을 사용한다. PCR은 steroid 11 $\beta$  hydroxylase 유전자 부위를 sense primer로, aldosterone synthase 유전자 부위를 anti-sense primer로 사용하여, 융합 유전자의 유무를 확인하게 된다. Fig. 2는 저자의 검사실에서 수행한 유전자 PCR 분석결과이다.

### GRA의 생화학적 특징

#### Aldosterone synthase GRA chimeric gene

Fig. 2. GRA환자의 PCR분석. Aldosterone synthase 유전자는 정상인과 환자 모두 3.9kb 산물이 증폭되지만 GRA chimeric gene은 GRA 환자에서만 3.9kb 산물이 증폭이 된다. GRA 환자의 genomic DNA는 R.D. Gordon으로부터 기증받아 분석하였다.

전자의 3' prime부위를 융합시켜 cDNA를 만든 후 COS-1 세포주에 transfection 시켰을 때, steroid 11 $\beta$  hydroxylase 유전자의 처음 3 exon까지 있으면, aldosterone이 거의 정상 수준까지 생성이 되지만, 5개 이상의 exon이 있으면, aldosterone이 거의 검출되지 않는 것을 실험적으로 증명하였다.

GRA 환자에서 두 유전자의 cross-over는 보통 exon 2에서 intron 4에 이르는 5 prime 부위에서 일어난다. Lifton 등(1992)이 서로 다른 GRA 환자 11가족의 chimeric gene의 DNA 염기서열 결정을 통하여 cross-over 분석결과에 따르면, intron 2에서 4가족, intron 2-exon 3가 3가족, exon 4가 1가족, exon 4-intron 4가 3가족이었다. 이들 분석결과로부터, GRA 각각의 환자 가족들은 단일 조상으로부터 유래한 founder effect가 없이 독립적으로 돌연변이가 발생하였다는 것을 알 수 있다.

GRA 환자의 유전적 진단을 위해서 사용되는 방법은 Southern blot hybridization 방법과 PCR방법 두 가지가 사용될 수 있다. Southern blot hybridization은 일반적으로 Bam H1으로 제한효소 처리된 genomic DNA를 steroid 11 $\beta$  hydroxylase 유전자의 exon 3-4부위 혹은 융합 부분전체를 탐침자로 정상인에서 존재하지 않는

정상적으로는 steroid 11 $\beta$  hydroxylase 유전자는 ACTH의 조절을 받으며 주로 adrenal fasciculata에서 발현되며, aldosterone synthase 유전자는 renin-angiotensin system의 조절을 받고, adrenal glomerulosa에서 발현된다. GRA 질환에서는 정상적으로 steroid 11 $\beta$  hydroxylase을 조절하는 ACTH가 chimeric aldosterone synthase를 조절하여 adrenal fasciculata에서 aldosterone의 생성과 함께, 이 부위에서 생성되는 cortisol을 대사하여 정상적으로는 만들어지지 않는 18-hydroxycortisol과 18-oxocortisol을 생산하게 된다. 이와 같이 증가된 aldosterone이 GRA의 aldosteronism을 설명할 수 있으며, renin 분비에 의한 feedback 기전에 의해 정상적으로 adrenal glomerulosa에서 정상유전자가 만들어 내는 aldosterone 분비가 억제되면서, 지속적으로 ACTH의 조절에 의해 aldosterone 분비가 이루어지는 것이다. 이러한 aldosterone synthase 유전자의 작용은 일종의 gain of function을 갖는 돌연변이의 일종이라고 할 수 있으며, 상염색체 우성으로 유전하는 기전을 설명할 수 있다.

GRA를 생화학적으로 진단하기 위해서는 혈장내에서 aldosterone, 18-hydroxycortisol과 18-oxocortisol이 증가하는 것과 요즘에 18-hydroxycortisol과 18-oxocortisol을 검출하면 된다. ACTH를 정맥주사할 경우, 이 양상은 더욱 뚜렷해진다. 이러한 대사물질의 측정을 위해서 gas chromatography-mass spectrometry 방법 등을 사용할 수 있다.

Gordon(1995)은 영국에서 호주로 이주한 1000명의 자손에 대하여 21명의 환자를 발견하였는데, 이들의 발현형이 매우 다양하다는 것을 발견하였다. 환자들은 보통 정상 혈중 포타슘 농도가 정상이고, 일부는 노년까

지 정상 혈압이었다. 그러므로 이 환자들을 가족성 고알도스테론증 1형으로 명명하였는데, 이 경우 steroid 11 $\beta$  hydroxylase과 aldosterone synthase의 융합점이 다른 것을 제시하였다.

Pascoe 등(1995)는 GRA 환자의 부신 조직 생검에서 steroid 11 $\beta$  hydroxylase/aldosterone synthase 유전자의 조절과 작용에 대하여 분석한 결과, RT-PCR과 Northern blot analysis에서 부신피질에서 steroid 11 $\beta$  hydroxylase나 aldosterone synthase보다 steroid 11 $\beta$  hydroxylase/aldosterone synthase 유전자의 발현이 더 높다는 것을 분석하였다. 세포 배양에서 융합유전자의 발현은 ACTH에 의해 자극받으며, aldosterone의 생성을 증가시키는 것이 확인되었다. Gate 등(1996)은 GRA 두 가족에서 비정상 융합유전자를 확인하였으나, 경한 고혈압과 정상 생화학적 소견을 보이므로 본태성 고혈압 환자와 임상적으로 구별할 수 없었다고 보고하였다. 이는 GRA의 빈도가 진단에서 예측되는 빈도보다 더 높을 것임을 시사하고 있다.

### GRA의 분석으로부터 제기되는 과제

GRA는 매우 독특한 기전으로 발생되는 유전성 고혈압 질환이다. 이 질환으로부터 우리는 몇 가지 과제들을 생각해볼 수 있다.

첫 번째 문제는 이제까지 이 질환에 대한 진단이 상대적으로 어려웠었고, 따라서 GRA 환자는 발견 및 진단이 잘 되지 않았을 것이란 가정을 할 수 있다. 그러므로 이 질환의 빈도는 현재 진단할 때 보다 더 많은 것이 아닐까 추정해볼 수 있다. 이제까지 연구결과를 고려하면, 선종이 없이 primary aldosteronism을 보이는 고혈압 환자나, 소아나, 젊은 환자에서 혈장 renin 활성도가 낮은 환자에서 GRA에 관한 유전적 선별검사를 시행할 수 있을 것이다. 이 질환의 표현형이 매우 다양한 양상을 보이므로, 저 칼륨혈증이나, 경한 고혈압인 환자라고 하더라도, 가족내 고혈압이 유전적 경향을 띠고 있다면, 이 질환의 가능성을 한번쯤 의심해 볼 수 있을 것으로 생각된다. 현재까지 저자의 검사실에서 유전적 분석에서 융합유전자를 가진 환자를 발견하지는 못하였다. 이 질환의 발생기전은 앞에서 설명한대로

unequal crossing over로써 서양인 환자분석에서 각 환자들이 독립적으로 돌연변이를 일으킨 사례 이므로 한국인 내에서도 자생적으로 발생할 가능성을 충분히 예상할 수 있다.

두 번째, 이 질환은 steroid 11 $\beta$  hydroxylase의 5' prime 부분과 aldosterone synthase 3' prime 부분이 융합이 되어 생성된 유전자로 초래되는 질환이다. 그렇다면, 그 반대의 경우인 aldosterone synthase의 5' prime 부분과 steroid 11 $\beta$  hydroxylase의 3' prime 부분이 융합한 경우는 없을까? 물론 이것은 고혈압과 관계없을 가능성이 많지만, 인체내 대사의 이해라는 측면에서는 흥미로운 문제이다. 현재까지 이러한 chimerism에 대해서는 알려진 것이 없다.

세 번째, 이 질환은 현재로서는 이 질환의 penetrance가 매우 높다고 생각되고 있고, 가족들사이에서도 융합유전자에 대한 효과가 다르고, 단일 가족내에서도 표현형이라고 할 수 있는 포티슘 혈증과 혈압의 양상이 매우 다양하다. 그렇다면, GRA 원인 유전자에 대하여 혈압을 조절하는 다른 유전자, 즉 혈압을 떨어뜨리는 유전자의 존재를 생각해볼 수 있다. 이제까지는 다인자질환에서 상호작용을 하는 유전자들을 분석하는 방법들이 거의 개발이 되지 않았다. 그러나, 최근 분자생물학적 방법의 발달과 함께, 유전적 분석을 위한 수학적 모형들이 활발하게 개발되고 있다. 이러한 수학적 모형들을 사용하여 이 질환의 환자나 가족들에 대한 분석을 통하여 고혈압의 조절에 기여하는 새로운 유전자를 분리할 수 있을 것이다. 그렇다면, GRA 자체가 현재로서는 매우 희귀한 질환이라고 하더라도, 이 질환에 대한 연구와 분석을 통하여, 일반적인 고혈압 질환에 관여하는 유전자들의 역할을 알아볼 수 있는 기회가 될 수 있을 것으로 생각된다.

### 참 고 문 헌

- Chua SC, Szabo P, Vitek A, Grzeschik KH, John M, White PC: Cloning of cDNA encoding steroid 11-beta-hydroxylase(P450 C11). Proc Nat Acad Sci 84:7193-7197, 1987
- Ganguly A, Grim CE, Bergstein J, Brown RD,

- Weinberger MH: *Genetic and pathophysiologic studies of a new kindred with glucocorticoid-suppressible hyperaldosteronism manifest in three generations.* *J Clin Endocr Metab* 53:1040-1046, 1981
3. Ganguly A, Grim CE, Weinberger MH: *Anomalous postural aldosterone response in glucocorticoid-suppressible hyperaldosteronism.* *New Eng J Med* 305:991-993, 1981
4. Gates LJ, MacConnachie AA, Lifton RP, Haites NE, Benjamin N: *Variation of phenotype in patients with glucocorticoid removable aldosteronism.* *J Med Genet* 33:25-28, 1996
5. Giebink GS, Gotlin RW, Biglieri EG, Katz FH: *A kindred with familial glucocorticoid-suppressible aldosteronism.* *J Clin Endocr* 36:715-723, 1973
6. Gordon RD: *Heterogeneous hypertension.* *Nature Genet* 11:6-9, 1995
7. Grim CE, Weinberger MH: *Familial, dexamethasone-suppressible, normokalemic hyperaldosteronism.* *Pediatrics* 65:597-604, 1980
8. Lifton RP, Dluhy RG, Powers M, Rich GM, Cook S, Ulick S, Lalouel JM: *A chimeric 11 beta-hydroxylase/aldosterone synthase gene causes glucocorticoid-removable aldosteronism and human hypertension.* *Nature* 355:262-265, 1992
9. Mornet E, Dupont J, Vitek A, White PC: *Characterization of two genes encoding human steroid 11-beta-hydroxylase(P-45011-beta).* *J Biol Chem* 264:20961-20967, 1989
10. Mulrow PJ: *Glucocorticoid-suppressible hyperaldosteronism: a clue to the missing hormone?* (Editorial) *New Eng J Med* 305:1013-1014, 1981
11. New MI, Peterson RE: *A new form of congenital adrenal hyperplasia.* *J Clin Endocr* 27:300-305, 1967
12. Pascoe L, Curnow KM, White PC: *Mutations in the CYP11B1(11-beta-hydroxylase) and CYP11B2 (aldosterone synthase) genes causing CMOII deficiency, 11-hydroxylase deficiency and glucocorticoid suppressible hyperaldosteronism (Abstract).* *Am J Hum Genet* 51(suppl.):A28, 1992
13. Pascoe L, Jeunemaitre X, Lebrethon MC, Curnow KM, Gomez-Sanchez CE, Gasc JM, Saez JM, Corvol P: *Glucocorticoid-suppressible hyperaldosteronism and adrenal tumors occurring in a single French pedigree.* *J Clin Invest* 96:2236-2246, 1995
13. Salti IS, Stiefel MRuse JL, Laidlaw JC: *Non-tumorous 'primary' aldosteronism. I. Type relieved by glucocorticoid(glucocorticoid-removable aldosteronism).* *Canad Med Assoc J* 101:1-10, 1969
14. Sutherland DJ, Ruse JL, Laidlaw JC: *Hypertension, increased aldosterone secretion and low plasma renin activity relieved by dexamethasone.* *Canad Med Assoc J* 95:1109-1119, 1966